

DISTRIBUCION EN EL MELOCOTONERO TEMPRANO DEL N PROCEDENTE DE LAS HOJAS MARCADAS CON ^{15}N -UREA.

N. Muñoz; F. Legaz; E. Primo-Millo; J. Guerri.
Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias.
Ap. Oficial, Moncada 46113, Valencia (España)

Abstract

Distribution of N from leaves treated with ^{15}N -urea in early maturing peach trees

Leaves from 4 peach trees were treated with aqueous (2%) ^{15}N -urea solution at the beginning of senescence. Leaves exported near 50% of the N coming from the urea treatment before abscission. In the dormancy, ^{15}N enrichments among the different organs were relatively homogeneous, indicating that possibly there are no storage specific organs for the N coming from urea. The N from urea treatment accumulated preferably in bark although in this fruit species the wood also plays an important role as reservation tissue. About 70% of N coming from urea was stored in the form of soluble nitrogen.

Resumen

Las hojas de 4 árboles de melocotonero de la variedad 'Maycrest' se trataron, al comienzo de la senescencia de las hojas, con una solución acuosa de urea al 2% enriquecida con ^{15}N . Las hojas caídas exportaron hasta un 50% del nitrógeno procedente de la urea, antes de su abscisión. En latencia, el enriquecimiento de ^{15}N en los distintos órganos del árbol fue relativamente homogéneo, lo que parece indicar que no existen órganos específicos de reserva para el N proveniente de las hojas. El N procedente de la urea se acumuló preferentemente en corteza, aunque en esta especie frutal, el leño también juega un papel como órgano de reserva. Alrededor de un 70% del nitrógeno procedente de la urea se almacenó como nitrógeno soluble.

Palabras clave adicionales

Nitrógeno soluble, nitrógeno proteico, reservas nitrogenadas, análisis de ^{15}N .

1. Introducción

La utilización de aplicaciones foliares de urea, como forma de aporte de N, ha sido sugerida por diversos autores (Boyton, 1954; Fisher et al., 1948; Halliday, 1961; Hamilton et al., 1943; Oland, 1960, 1963; Shim et al., 1972). La

absorción de la urea por las hojas, su metabolismo y translocación ocurre rápidamente en todas las especies estudiadas (Cain, 1956; Klein et al., 1984; Klein et al., 1987). Las hojas absorben altas concentraciones de urea que se hidroliza a amonio mediante el enzima ureasa, incorporándose a los aminoácidos y proteínas (Dilley et al., 1961; Shim et al., 1973a). En manzano, la eficacia de la urea vía foliar es cuatro veces mayor que la aplicación en el suelo (Shim et al., 1972), mientras que en melocotonero la eficiencia es menor (Bullock et al., 1952). La acumulación en las reservas nitrogenadas de la urea aplicada vía foliar ha sido estudiada en manzano (O'Kennedy et al., 1975a; Shim et al. 1973b). En este trabajo se presenta la distribución en el árbol durante la latencia, del nitrógeno aplicado vía foliar, al comienzo de la senescencia de las hojas, en forma de urea marcada isotópicamente.

2. Material y métodos

2.1. Material vegetal

Se plantaron 4 árboles de melocotonero de un año de edad, de la variedad 'Maycrest', injertados sobre patrón Nemaguard, en recipientes de 500 litros con substrato arenoso inerte y fertilizados con la solución nutritiva de Arnon y Hoagland modificada (Hewitt, 1966).

A finales de Septiembre del segundo año, las hojas se trataron mediante inmersión en una solución acuosa de urea al 2% (50% de enriquecimiento en ^{15}N), utilizando Triton-x-100 al 0.1% como mojante. A las 24 horas del tratamiento se tomaron 25 hojas de cada árbol al azar. Las hojas caídas se recogieron periódicamente en una malla instalada para dicho fin.

En latencia (finales de enero) se arrancaron los árboles y se fraccionaron en las siguientes partes: ramas, tronco, raíz gruesa y raíz fina. Con la excepción de la raíz fina siempre se separó la corteza del leño. Las muestras se lavaron, liofilizaron y después de ser trituradas se conservaron a -20°C hasta su análisis.

2.2. Análisis de nitrógeno total

El nitrógeno total se analizó por el método semimicro de Kjeldahl (Bremner, 1965a) usando sulfato potásico y selenio como catalizador.

2.3. Análisis de nitrógeno proteico

Para el análisis del nitrógeno no soluble se homogeneizaron mediante politrón 100 mg de tejido seco con 5 ml de tampón acetato 0.001M pH 5.0. Al homogenato se añadieron 25 ml de etanol frío, se mantuvo durante 18 horas a -20°C y posteriormente se centrifugó a 10 000 x g durante 15 minutos. El precipitado, que contenía en nitrógeno no soluble, se analizó mediante el mismo método que el N total.

2.4. Análisis de ^{15}N

Para el análisis del ^{15}N se utilizaron los destilados del N total y no soluble. Las muestras se prepararon según el

método de Rittenberg (Bremner, 1965b; Fielder et al., 1972) se analizaron mediante un espectrómetro de emisión Jasco N-15 según el método de Yamamuro (1981). El porcentaje de ^{15}N en exceso se calculó restando del valor de los análisis la abundancia natural (0.366 átomos % de ^{15}N).

2.5. Nitrógeno soluble

La cantidad de nitrógeno soluble marcado y sin marcar, se obtuvo por sustracción del nitrógeno no soluble del nitrógeno total.

3. Resultados

Los valores del porcentaje de N total y el enriquecimiento de ^{15}N total en las hojas a las 24 horas de marcado fueron de 3.15% y 1.95% respectivamente (Tabla 1). En las hojas recogidas a los 3 y 6 días se observó una disminución progresiva tanto de N total como de enriquecimiento de ^{15}N . Las hojas recogidas a partir de este momento no mostraron diferencias apreciables.

La tabla 2 muestra los enriquecimientos de ^{15}N en forma de N total, proteico y soluble, en las distintas partes del árbol. Los valores de ^{15}N total fueron bastante homogéneos en las distintas partes del árbol, a excepción del leño del tronco. La fracción soluble presentó siempre un enriquecimiento similar o mayor que la del N proteico. El mayor enriquecimiento se encontró en la corteza de las ramas en forma de N soluble. La distribución del N aplicado en forma de urea se presenta en la Tabla 3. La mayor cantidad de N se incorporó a la fracción soluble, representando alrededor de un 70% del contenido total de N procedente de la urea. En todos los órganos, la cantidad de N soluble fue mayor que el N proteico, a excepción de la corteza de tronco. Los principales órganos de almacenamiento fueron las cortezas. Las cortezas de los órganos leñosos se mostraron como los principales órganos de almacenamiento del N absorbido de la urea.

4. Discusión

Está generalmente aceptado que en los árboles frutales de hoja caduca, parte del nitrógeno de las hojas es reabsorbido por el árbol antes de la abscisión (Batjer et al., 1958; Cullinan, 1931; Murneek, 1930; Oland, 1963; Spencer et al., 1972; Taylor, 1967b; Taylor et al., 1969). En nuestros estudios, las hojas caídas a partir del 10º día mostraron una pérdida en el N total de alrededor del 30% y un 50% en el enriquecimiento de ^{15}N respecto de las hojas analizadas a las 24 horas del tratamiento (Tabla 1). Estos resultados están de acuerdo con los encontrados en manzano por otros autores, donde el porcentaje de pérdida del N de la hoja en el momento de la abscisión varía entre el 23% y el 50% (Hennerty et al., 1977; Murneek, 1930; Murneek et al., 1932; O'Kennedy et al., 1975; Spencer et al., 1972). En estudios realizados en

melocotonero por Taylor et al. (1969) se observó que las hojas movilizan el 50% de su N, independientemente del N suministrado por suelo y/o de la cantidad del contenido de N del árbol. Por otra parte, el hecho de que disminuyó más el ^{15}N que el N total parece indicar que existe una exportación preferente del N procedente de la urea.

Las hojas caídas hasta el 6º día presentaron mayores valores de ^{15}N mayores que las recogidas posteriormente. Esto puede ser debido a una menor translocación del N absorbido, por una caída prematura de estas hojas, como consecuencia del estrés mecánico ocasionado durante el tratamiento. En estudios realizados en manzano, utilizando sulfato de zinc como defoliante (Castagnoli et al., 1990) se demostró que la caída prematura de las hojas, produce una disminución en la exportación del N.

El enriquecimiento de ^{15}N en los distintos órganos del árbol (Tabla 2) fue bastante homogéneo, lo que parece indicar que no existen órganos específicos de reserva para el N proveniente de las hojas. En estudios realizados en manzano por Tromp (1970), se encontró que el N aplicado por el suelo en otoño se acumuló principalmente en las raíces, mientras que el N suministrado vía foliar se depositó en la parte aérea. Sin embargo, en otro trabajo realizado también en manzano, por Shim et al. (1973b) no se encontraron órganos específicos de almacenamiento del N.

La cantidad de N procedente de la urea, siempre fue mayor en corteza que en leño (Tabla 3). Este hecho puede ser debido a que la proporción de células vivas en corteza es mayor que en leño, o bien como sugieren muchos autores (Shim et al., 1973b; Tromp et al., 1970) a que el N de las hojas es transportado a los órganos leñosos vía floema, lo cual favorecería la acumulación de dicho N en la corteza. Por su parte el leño contiene el 25 % del N total de árbol procedente de la urea. Esta elevada proporción podría explicarse por la interconexión existente entre xilema y floema. Estos intercambios también se han encontrado en estudios realizados en cítricos (Wallace et al., 1954) y en manzano (Shim et al., 1973b; Spencer et al., 1971). Por otro lado, O'Kennedy et al. (1975) encontraron un mayor porcentaje de N en corteza procedente de urea, pero no excluyeron el papel del leño como órgano de reserva.

Alrededor del 70% del N proveniente de la urea se acumuló en forma de N soluble (Tabla 3). Por estudios realizados en melocotonero (Muñoz et al., 1993a; Taylor, 1967a; Taylor et al., 1967) se sabe que en esta especie, durante la parada invernal, el N se acumula principalmente en forma de N soluble como arginina, y en menor proporción como asparagina. En la corteza del leño y del tronco se encontraron las mayores cantidades de N proteico procedente de la urea (Tabla 3). En este sentido, Muñoz et al. (1993a) detectaron en este tejido unas proteínas de 56 y 17 Kd, cuya concentración era alta durante la latencia, disminuyendo rápidamente durante la primavera. Esto podría indicar que actúan como proteínas de reserva. En otras especies como manzano, el N procedente de

los tratamientos vía foliar de urea, se acumuló principalmente en forma de N proteico (O'Kennedy et al., 1975; Shim et al., 1973b).

Está ampliamente aceptado que las reservas nitrogenadas juegan un papel muy importante para el desarrollo de los nuevos órganos durante la brotación de primavera (Kang et al., 1982; Oland, 1959, 1963; Shim et al., 1973b; Taylor, 1967a; Taylor et al., 1969; Tromp, et al., 1973; Weinbaum et al., 1980). En un estudio realizado por Muñoz et al. (1993b), utilizando fertilizantes marcados con ^{15}N , solo el 7% del N encontrado en los nuevos órganos durante la floración y fructificación procedía del fertilizante y el 93% restante de las reservas nitrogenadas.

La utilización de urea foliar, podría ser un método complementario al abonado por suelo para incrementar las reservas nitrogenadas del árbol.

Agradecimientos

Los autores desean expresar su gratitud a Ester Estela por su asistencia técnica en el laboratorio. Este trabajo ha sido financiado por el proyecto I.N.I.A. Nº 8547.

Referencias

- Batjer, L.P., and Westwood, M.N. 1958. Seasonal trend of several nutrient elements in leaves and fruits of 'Elberta' Peach. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 71:116-126.
- Bremner, J.M. 1965a. Total Nitrogen. In *Methods of Soil Analysis*. Ed. C A Black. Part 2. pp 1149-1178. Amer. Soc. Agron. Madison, Wis.
- Bremner, J.M. 1965b. Isotope-ratio Analysis of Nitrogen in Nitrogen-15 Tracer Investigations. In *Methods of Soil Analysis*. Ed. C A Black, Part 2, pp 1256-1286. Amer. Soc. Agron. Madison, Wis.
- Boynton, D., 1954. Nutrition by foliar application. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 5:31-54.
- Bullock, R.M., Benson, R.N., and Betty K.W. Tsal. 1952. Absorption of urea sprays on peach trees. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 60:71-74.
- Castagnoli, S.P., Dejong, T.M., Weinbaum, S.A., and Johnson, R.S. 1990. Autumn foliage applications of ZnSO_4 reduced leaf nitrogen remobilization in peach and nectarine. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 115:79-83.
- Cain, C. 1956. Absorption & metabolism of urea by leaves of coffee, cacao & banana. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 67:279-286.
- Cullinan, F.P. 1931. Some relationships between tree response and internal composition of shoots of the peach. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 28:1-5.
- Dilley, D.R., and Walker, D.R. 1961. Assimilation of ^{14}C , ^{15}N -labeled urea by excised apple and peach leaves. *Plant Physiol.* 36:757-761.

- Fiedler, R., and Proksch, G. 1972. Emission spectrometry for routine analysis of nitrogen-15 in agriculture. *Plant and Soil* 36:371-378.
- Fisher, E., Boynton, D., and Skodvin, K. 1948. Nitrogen fertilization of the McIntosh apple with leaf sprays of urea. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 51:23-29.
- Halliday, D.J. 1961. Foliar application of major nutrients to fruit and plantation crops. *Outlook Agr.* 3:111-115.
- Hamilton, J.M., Palmiter, D.H., and Anderson, L.C. 1943. Preliminary tests with uramon in foliage sprays as a mean of regulating the nitrogen supply of apple trees. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 42:123-126.
- Hennerty, M.J., and Morgan M.A. 1977. Nitrogen changes in apple leaf tissue. *Irish J. Agr. Res.* 16:111-114.
- Hewitt E.J., 1966. Sand and water culture methods used in the study of plant nutrition. 2nd Ed. Common Wealth Agricultural Bureaux, Farmham Royal, England. pp. 187-246.
- Klein, I., and Weinbaum, S.A. 1984. Foliar application of urea to olive: Translocation of urea nitrogen as influenced by sink demand and nitrogen deficiency. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 109:356-360.
- Klein, I., and Zilkah, S. 1986. Urea retention and uptake by avocado and apple leaves, *J. Plant Nutr.* 9:1415-1425.
- Kang, S.M., Ko, K.C., and Titus, J.S. 1982. Mobilization and metabolism of protein and soluble nitrogen during spring growth of apple tree. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 107:209-213.
- Muñoz, N., Legaz, F., Primo-Millo, E., Guerri, J. 1993. Cambios en aminoácidos libres y proteínas a lo largo del ciclo vegetativo en árboles jóvenes de melocotonero temprano "May-crest". *Investigación agraria. Producción y Protección Vegetales (en revisión)*.
- Muñoz, N., Guerri, J., Legaz, F., Primo-Millo, E. 1993. Seasonal uptake of ¹⁵N-nitrate and distribution of absorbed nitrogen in peach trees. *Plant and Soil.* (en prensa).
- Murneek, A.E. 1930. Quantitative distribution and seasonal fluctuation of nitrogen in apple trees. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 27:228-231.
- Murneek, A.E., and Logan, J.C. 1932. Autumnal migration of nitrogen and carbohydrate in the apple tree with special reference to leaves. *Bul. Mo. Agr. Expt. Sta.* 171.
- O'Kennedy, B.T., Hennerty, M.J., and Titus, J.S. 1975. The effects of autumn foliar urea sprays on storage forms of nitrogen extracted from bark and wood of apple shoots. *J Hort. Sci.* 50:331-338.
- O'Kennedy, B.T., Hennerty, M.J., and Titus, J.S. 1975b. Changes in the nitrogen reserves of apple shoots during the dormant season. *J Hort. Sci.* 50:321-329.
- Oland, K., 1960 Nitrogen feeding of apple trees by post-harvest urea sprays. *Nature.* 1985:857.
- Oland, K. 1963. Responses of cropping apple trees to post-

- harvest urea sprays. *Nature*. 198:1282-1283.
- Shim, K.K., Titus, J.S., and Splittstoesser, W.E. 1972. The utilization of post-harvest urea sprays by senescing apple leaves. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 97:592-596.
- Shim, K.K., Splittstoesser, W.E. 1973a. Changes in urease activity in apple leaves as related to urea applications. *Physiol. Plant.* 28:327-331.
- Shim, K.K., Titus, J.S., and Splittstoesser, W.E. 1973b. The fate of carbon and nitrogen from urea applied to foliage of senescing apple leaves. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 97:592-596.
- Spencer, P.W., and Titus, J.S. 1971. Translocation and glutamate-¹⁴C and aspartate-¹⁴C by intact apple trees. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 96:131-133.
- Spencer, P.W., and Titus, J.S. 1972. Biochemical and enzymatic changes in apple leaf tissue during autumnal senescence. *Plant Physiol.* 49:746-750.
- Taylor, B.K. 1967a. The nitrogen nutrition of the peach tree: I. Seasonal changes in nitrogenous constituents in mature trees. *Austral. J. Biol. Sci.* 20:379-387.
- Taylor, B.K., and May, L.H. 1967. The nitrogen nutrition of the peach tree. II. Storage and mobilization of nitrogen in young trees. *Austral. J. Biol. Sci.* 20:389-411.
- Taylor, B.K., and van den Ende, B. 1969. The nitrogen nutrition of the peach tree IV. Storage and mobilization of nitrogen in mature trees. *Austral. J. Agr. Res.* 20:869-881.
- Tromp, J. 1970. Storage and mobilization of nitrogenous compounds in apple trees with special reference to arginine. P. 143-159. In L.C. Luckwill and C.V. Cutting (eds.) *Physiology of tree crops*. Academic press, New York.
- Tromp, J., and Ovaa, J.C. 1973. Spring mobilization of protein nitrogen in apple bark. *Physiol. Plant.* 29:1-5.
- Wallace, A., Zidan, Z.I., Muller, R.T., and North, C.P. 1954. Translocation of nitrogen in citrus. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 64:87-104.
- Weinbaum, S.A., Uriu, K., and Muraoka, T.T. 1980. Relationship between K¹⁵NO₃ application period and de ¹⁵N enrichment of apricot blossoms and developing fruit. *J. Plant. Nutr.* 2:699-706.
- Yamamuro, S. 1981. The accurate determination of nitrogen-15 with an emission spectrometer. *Bull. Hokuriku Natl. Agric.* 23:57-80.